

УДК 612.017.1

©Л.А. Чекановская, А.В. Генералов

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ГАММА-ПЛАНТ НА ПРОДУКЦИЮ ФНО- α , ИЛ-1 β И ИЛ-6 МОНОНУКЛЕАРАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА IN VITRO.

Л.А. ЧЕКАНОВСКАЯ¹, А.В. ГЕНЕРАЛОВ²

¹Институт молекулярной генетики РАН, Москва, пл. акад. Курчатова д.2

²Институт эпидемиологии и микробиологии им. Габричевского Г.Н. МЗРФ
ул. адмирала Макарова д.10, Факс (095) 491-15-06

Изучено влияние нового лекарственного средства гамма-плант, обладающего противовоспалительной активностью, на синтез цитокинов мононуклеарами периферической крови человека. Рассматривается способность гамма-планта влиять на продукцию провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-1 β и ИЛ-6. Исследована спонтанная продукция лимфокинов и продукция лимфокинов клетками, стимулированными ЛПС. Определение содержания ИЛ-1 проводили с помощью ИЛ-1 чувствительной линии D10.G4.1, а содержание ИЛ-6 - с помощью ИЛ-6-зависимой гетерогрибидомы D6C8. Активность ФНО в супернатантах определяли по степени лизиса чувствительных к этому цитокину клеток мышинной фибросаркомы L-929. Было показано, что гамма-плант действует как стимулятор, когда продукция ИЛ-1 низкая, и как ингибитор в случае высокой его продукции. Низкие дозы гамма-планта стимулировали ЛПС-индуцированную продукцию ИЛ-6, тогда как для стимуляции спонтанной продукции требовались более высокие дозы. При внесении гамма-планта в культуру мононуклеарных клеток периферической крови человека была обнаружена статистически значимая стимуляция продукции ФНО, отличная от синтеза ФНО контрольными культурами. В ЛПС индуцированных культурах с уровнем синтеза ФНО ниже 100 пкг/мл всегда наблюдалась стимуляция выработки ФНО, у 4 из 5 доноров продуцентов ФНО наблюдалось замедление высвобождения цитокина. Предполагается, что происходит мягкая стимуляция системы провоспалительных цитокинов с одновременной активацией механизмов защиты.

Ключевые слова: гамма-плант, иммуномодулятор, мононуклеарные клетки, ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6

ВВЕДЕНИЕ. В последние годы внимание ученых сосредоточено на регуляторных белках, секретируемых лейкоцитами крови и другими клетками организма человека. Широко обсуждается их роль в регуляции клеток иммунной

системы и модуляции воспалительной реакции. Известно, что в очагах воспаления присутствует большое количество цитокинов. Два из них, а именно, ИЛ-1 и ФНО, ответственны за механизмы координации и играют важную регуляторную роль на всех стадиях воспалительного процесса [1]. Эти цитокины, известные как провоспалительные цитокины, индуцируют выработку многих факторов, напрямую связаны с прогрессированием нарушений, вызванных воспалительным процессом [2]. ИЛ-6, который совместно с ИЛ-1 β и ФНО- α регулирует синтез острофазных гликопротеинов гепатоцитами [3], также относится к одним из провоспалительных цитокинов [4]. Привлечение клеток в очаг воспаления, кооперация клеток иммунной системы друг с другом и с другими клетками организма, созревание, дифференцировка, пролиферация и старение клеток, развитие острофазных реакций. Цитокиновая сеть формирует систему иницирующих, амплифицирующих и супрессорных сигналов, что приводит к формированию и интеграции физиологических и патологических реакций организма на антигенное воздействие, микробную инвазию, воспаление, повреждение тканей, развитие опухолей и стресс [1]. Под влиянием ряда факторов патогенности, в первую очередь токсинов инфекционного возбудителя, индуцируется синтез провоспалительных цитокинов. К основным провоспалительным цитокинам относятся интерлейкин-1 (ИЛ-1), интерлейкин-6, фактор некроза опухоли- α (ФНО- α), интерфероны α и γ , ИЛ-8, ИЛ-12 и МИФ [4]. ИЛ-1 и ФНО- α опосредуют общие метаболические и гематологические сдвиги, наблюдаемые при развитии инфекционного процесса [5]. ФНО является одним из ключевых цитокинов, регулирующих процесс воспаления [6]. Патогенетическое значение повышения продукции ФНО показано для таких состояний как септический шок, синдром полиорганной недостаточности, системная красная волчанка, сахарный диабет, ВИЧ-инфекция и др. [7-10]. Способность лекарственного препарата влиять на продукцию цитокинов является важной характеристикой его противовоспалительной и иммуномодулирующей активностей [11].

В этой связи большой интерес представляет эффективный противовоспалительный препарат гамма-плант. Целью настоящего исследования явилось изучение его влияния на синтез провоспалительных цитокинов. Как было описано ранее, гамма-плант представляет собой выделенный из высших растений природный гликопротеин [12]. Было показано, что препарат оказывает иммуномодулирующий эффект *in vitro* на лимфоцитах периферической крови людей, страдающих эрозивно-язвенными гастритами [13]. Гамма-плант является нетоксичным индуктором интерферона [14]. Препарат оказался эффективен у больных острыми вирусными гепатитами В и В+С [15].

Поскольку гамма-плант не обладает ни бактерицидной, ни вирусостатической активностью, логично было предположить, что его терапевтическое действие связано с иммуномодулирующими эффектами, например, с модификацией синтеза цитокинов.

МЕТОДИКА. Мононуклеарные клетки выделяли из периферической крови (МПК) здоровых доноров методом градиентного центрифугирования с использованием смеси фиколл-верографина. Клетки дважды отмывали забуференными фосфатами, изотоническим раствором хлорида натрия и ресуспендировали в среде RPMI 1640 (ICN, Великобритания) с добавлением 10% сыворотки плода коровы (Flow, Великобритания), 20 мкг/мл гентамицина, 2 мМ

L-глутамин и 2 mM HEPES, $2,8 \times 10^{-6}$ M 2-меркаптоэтанола. Суспензию МПК в концентрации 10^6 клеток/мл в объеме 1,5 мл/лунку культивировали в 24 – луночной панели (Nunc, Дания) с или без 0,1 мкг/мл липополисахарида (ЛПС) в течение 12 часов при 37°C во влажной атмосфере, содержащей 5% CO_2 . Влияние гамма-планта на продукцию цитокинов исследовали в диапазоне доз от 1 до 100 мкг/мл. Надосадочную жидкость, содержащую цитокины хранили при -20°C .

Активность ФНО в надосадочных жидкостях определяли модифицированным методом Ruff и Gilford [16]. Клетки L-929 инкубировали при 37°C с плотностью 3×10^5 клеток в лунке в 96-луночных плоскодонных планшетах в среде 199 на растворе Хенкса с 10% инактивированной сывороткой крупного рогатого скота до образования монослоя. После удаления культуральной среды, вносили по 100 мкл двукратных серийных разведений исследуемых образцов надосадочной жидкости и 100 мкл свежей среды с актиномицином D (Sigma, США) в концентрации 2 мкг/лунку. Клетки инкубировали 18 часов в тех же условиях. Результаты реакции учитывали путем окрашивания выживших клеток кристалл-виолетом. Для этого в лунки панели заливали 0,2% раствор кристалл-виолета (Sigma, США) в 2% этаноле на 15 минут, промывали под проточной водой и высушивали. Оптическую плотность окрашенных клеток измеряли на спектрофотометре с вертикальным лучом Multiscan (Великобритания) при длине волны 540 нм. В качестве стандарта использовали различные концентрации рекомбинантного ФНО- α человека (Институт биоорганической химии РАН, Москва). Содержание ФНО в надосадочных жидкостях выражали в пкг/мл.

Определение содержания ИЛ-1 в супернатантах проводили с помощью ИЛ-1-чувствительной мышинной линии Т-клеток хелперов клона D10.G4.1. Клетки культивировали в среде RPMI-1640, с добавлением 10% сыворотки плода коровы, 2 mM L-глутамин, 50 mM 2-меркаптоэтанола и 10% мышинового ростового фактора в качестве источника ИЛ-2. Источником мышинового ростового фактора служил супернатант, полученный после 24-часового культивирования спленоцитов мышей линии DBA/2J в среде RPMI 1640 с добавлением 1% сыворотки плода коровы в присутствии 1 мкг/мл конканавалина А. В качестве антигена и фидерных клеток были использованы кональбумин (Sigma, США) и облученные клетки селезенки самцов мышей линии CBA/2 (H-2^k), соответственно.

Для определения активности ИЛ-1 использовали клетки D10.G4.1 на 10-12-день культивирования после добавления антигена и фидерных клеток. Клетки D10.G4.1 инкубировали в течение 65 часов в присутствии серийных разведений (1:20 - 1:200) исследуемых надосадочных жидкостей в 96-луночных плоскодонных планшетах (2×10^4 клеток/мл) в среде RPMI 1640 с добавлением 5% сыворотки плода коровы, 2 mM L-глутамин и 2,5 мкг/мл конканавалина А во влажной атмосфере, содержащей 5% CO_2 . За 4 часа до окончания культивирования в культуру вносили 40 кБк на лунку [^3H] - тимидина. Клетки переносили на стеклянные фильтры и оценивали интенсивность включения радиоактивной метки с помощью жидкостного сцинтилляционного спектрофотометра.

Определение содержания ИЛ-6 в надосадочных жидкостях проводили с помощью ИЛ-6 – зависимой гетерогбридомы D6C8 [17]. Серийные разведения надосадочных жидкостей и рекомбинантный ИЛ-6 (код 89/45, NIBSC, UK), в

качестве стандарта, инкубировали в 96-луночных плоскодонных планшетах с клетками (5×10^4 клеток/лунку) в 200 мкл при 37°C . Клетки культивировали в течение 48 часов в RPMI 1640, содержащей 5% диализованную сыворотку АВ группы крови человека. За 4 часа до окончания культивирования в культуру вносили [^3H] - тимидин как описано выше.

Статистическую обработку результатов проводили согласно t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Интенсивность продукции цитокинов, вырабатываемых в контрольных культурах, отличается заметной гетерогенностью у различных доноров и не является стабильным генетически детерминированным признаком. Такая изменчивость была продемонстрирована в наших опытах (табл. 1 и 2). Однако вид ответа, полученного после добавления гамма-планта к культурам МПК различных доноров, оказался в основном похожим. Значения концентраций ФНО- α , измеренные в надосадочных жидкостях указывают на стимуляцию продукции цитокина у всех доноров, но характер кривых "доза-ответ" мог быть различным. На рис. 1 показаны кривые "доза-ответ" для четырех лиц. Для культур нестимулированных ЛПС типичной является кривая "доза-ответ" в виде перевернутой буквы U. У пациентов, у которых в контрольных культурах, стимулированных ЛПС, уровни выработки ФНО, были ниже 100 пкг/мл, не наблюдалось замедления выработки ФНО. С другой стороны, у половины этих доноров, некоторые концентрации гамма-планта проявляли ингибиторное действие в нестимулированных культурах. Не было обнаружено торможения высвобождения цитокинов в нестимулированных культурах с различными дозами гамма-планта у пациентов с выработкой ФНО более 100 пкг/мл. У 4 из 5 доноров, продуцентов ФНО, наблюдалось замедление высвобождения цитокинов в культурах, стимулированных ЛПС.

Таблица 1. Уровень продукции ФНО (пкг/мл) мононуклеарами периферической крови здоровых доноров после 12-часовой инкубации без добавления ЛПС

Номера доноров	Дозы препарата гамма-плант (мкг/мл)					
	Контроль	1	3	10	30	100
1	28 \pm 5	32 \pm 5	64 \pm 9*	130 \pm 12*	38 \pm 5	49 \pm 10
2	33 \pm 2	189 \pm 69*	165 \pm 36*	271 \pm 40*	291 \pm 17*	14 \pm 2*
3	146 \pm 21	158 \pm 11	70 \pm 11*	84 \pm 9*	80 \pm 22*	3 \pm 1*
4	23 \pm 5	187 \pm 84*	215 \pm 36*	237 \pm 34*	7 \pm 2*	4 \pm 1*
5	4 \pm 1	28 \pm 6*	34 \pm 13*	34 \pm 11*	32 \pm 12*	41 \pm 11*
6	219 \pm 6	266 \pm 24	325 \pm 32*	667 \pm 57*	509 \pm 29*	423 \pm 14*
7	1002 \pm 90	2396 \pm 241*	2771 \pm 210*	3719 \pm 229*	3263 \pm 259*	3125 \pm 319*
8	248 \pm 14	749 \pm 52*	784 \pm 31*	982 \pm 116*	994 \pm 71*	394 \pm 23*
9	299 \pm 28	963 \pm 24*	958 \pm 101*	1513 \pm 114*	1484 \pm 38*	1082 \pm 62*

Примечание: * $p < 0,05$ (по сравнению с контролем)

Начальный уровень продукции ИЛ-1 различался у исследуемых доноров. В клеточной культуре первого донора продукция цитокина была высокой, тогда как в клетках второго донора наблюдался низкий уровень выработки ИЛ-1. В нестимулированной культуре третьего донора продукция цитокина была очень

высокой, но в культуре, стимулированной ЛПС, того же донора резко падала (рис. 2). Данные показывают, что при высокой продукции ИЛ-1 (как спонтанной, так и индуцированной ЛПС) внесение гамма-планта в клеточные культуры доноров влекло за собой снижение количества высвобождаемого ИЛ-1 (донор 1). Напротив, при низкой продукции цитокина (донор 2) наблюдалась стимуляция высвобождения ИЛ-1. Результаты, полученные для клеток донора 3, подтверждают закономерность описанного выше. Таким образом, при воздействии гамма-планта на культуры МПК доноров подавляется высокий уровень продукции ИЛ-1 и стимулируется низкий уровень ЛПС-индуцированной продукции ИЛ-1.

Таблица 2. Уровень продукции ФНО (пкг/мл) мононуклеарами периферической крови здоровых доноров после 12-часовой инкубации в присутствии ЛПС

Номера доноров	Дозы препарата гамма-плант (мкг/мл)					
	Контроль	1	3	10	30	100
1	41±11	45±11	41±9	56±12	47±9	71±13
2	30±3	258±34*	302±37*	383±25*	ND	380±25*
3	156±35	ND	165±14	126±12	201±11	189±25
4	34±10	277±51*	431±84*	298±28*	451±77*	183±33*
5	26±5	47±10	37±6	62±5*	35±5	26±4
6	187±11	276±42*	215±15	265±19*	274±25*	304±22*
7	2069±67	1858±167	2054±113	2267±134	2038±108	1291±62*
8	415±14	283±27*	397±26	866±222*	575±54*	482±34
9	760±30	247±15*	591±48*	678±30	936±158*	1077±138*

Примечание: * $p < 0,05$ (по сравнению с контролем)

Было показано, что сколько-либо заметной вариабельности в начальных уровнях продукции ИЛ-6 в культурах МПК трех исследуемых доноров отмечено не было (рис.3). Внесение гамма-планта в клеточные культуры доноров приводило к стимуляции выработки ИЛ-6, одинаковой у всех доноров, за исключением случая нестимулированной культуры донора 3. Однако, можно было наблюдать индивидуальные различия стимуляции продукции ИЛ-6 в зависимости от доз гамма-планта. Так, у двух доноров (№№ 2 и 3), только малые концентрации гамма-планта (1-4 мкг/мл) стимулировали выработку ЛПС-индуцированного ИЛ-6. Подобная стимуляция наблюдалась после внесения в клеточную культуру МПК донора 3 гамма-планта в пределах диапазона доз 11-30 мкг/мл. Стимуляция продукции ИЛ-6 в культурах МПК необработанных ЛПС происходила только при добавлении к ним относительно высоких доз гамма-планта (доноры 1 и 2), тогда как у донора №3 не была обнаружена подобная стимуляция продукции ИЛ-6, хотя нельзя исключить возможность подобной стимуляции при больших концентрациях гамма-планта.

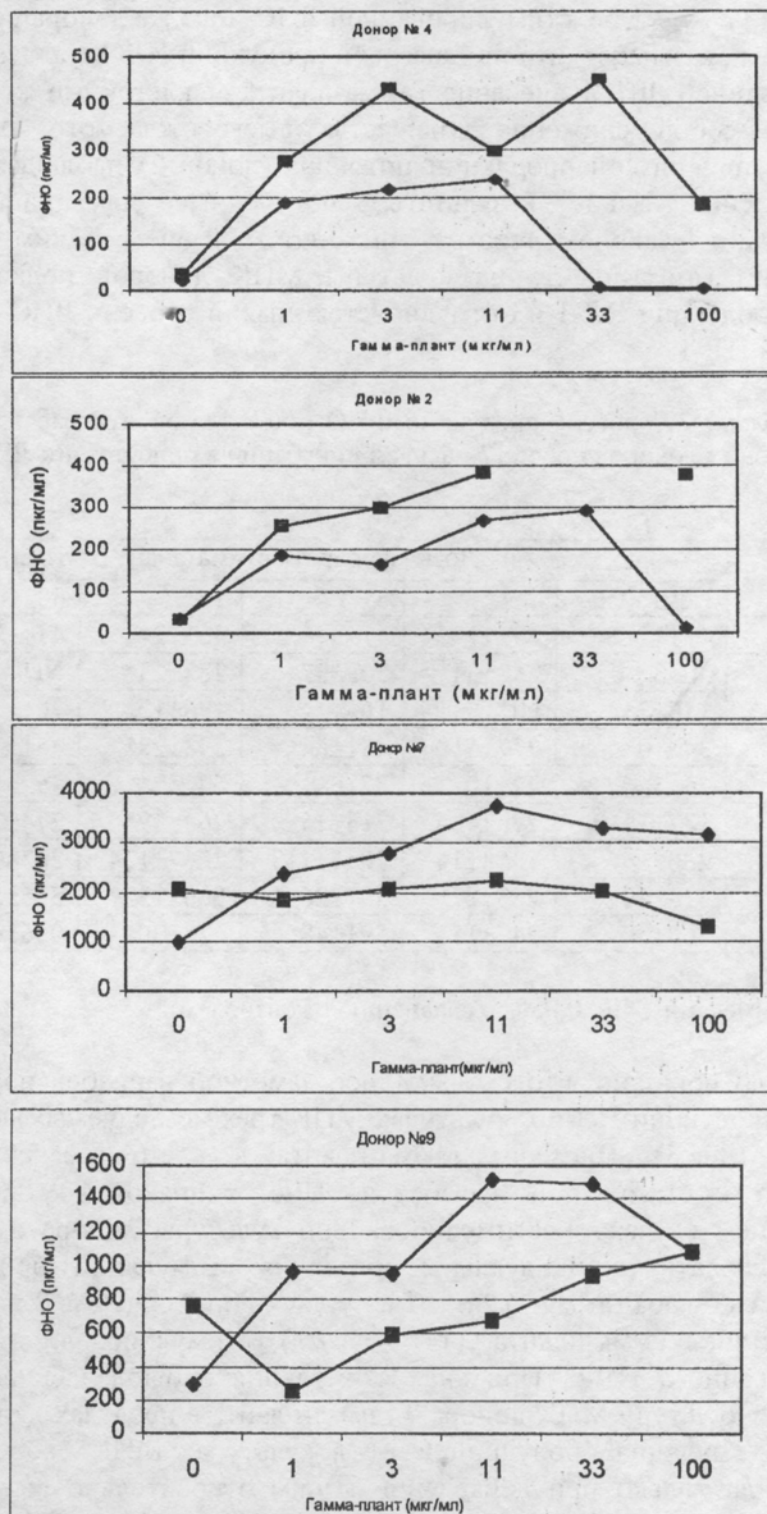


Рисунок 1.

Влияние разных концентраций гамма-планта на продукцию ФНО в присутствии ЛПС (кривая, на которой точки обозначены квадратами) и в отсутствии ЛПС (кривая, на которой точки обозначены ромбами) из *N.meningitidis* (0,1 мкг/мл). Как пример различных типов кривых представлены четыре из девяти экспериментов.

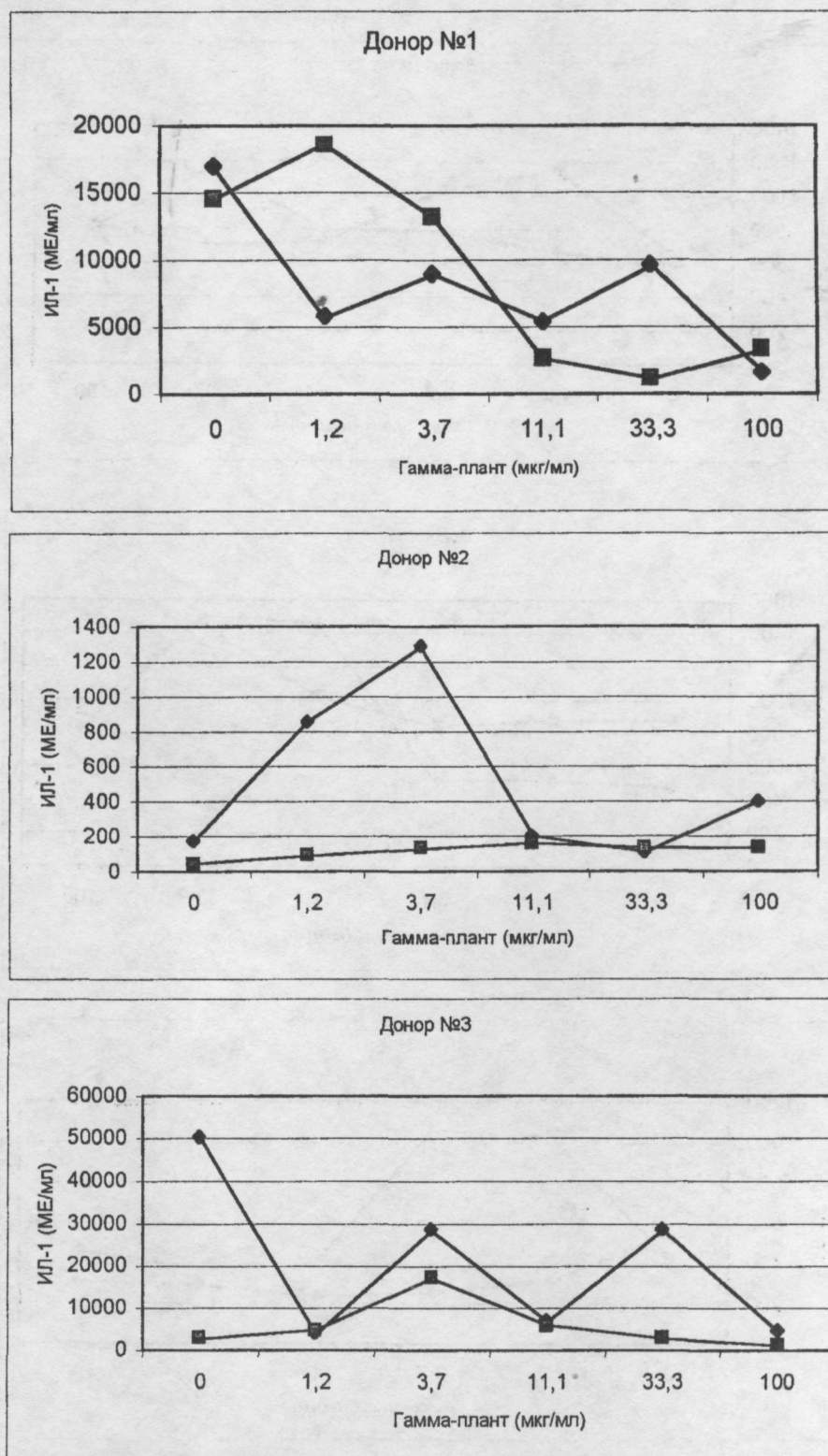


Рисунок 2.

Влияние разных концентраций гамма-планта на продукцию ИЛ-1 в присутствии ЛПС (кривая, на которой точки обозначены квадратами) и в отсутствии ЛПС (кривая, на которой точки обозначены ромбами) из *N.meningitidis* (0,1 мкг/мл). Мононуклеары периферической крови человека были получены от трех различных доноров.

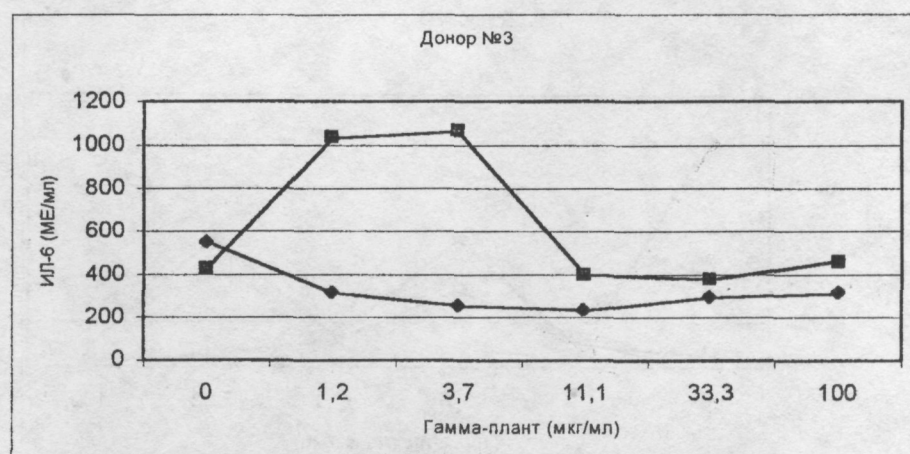
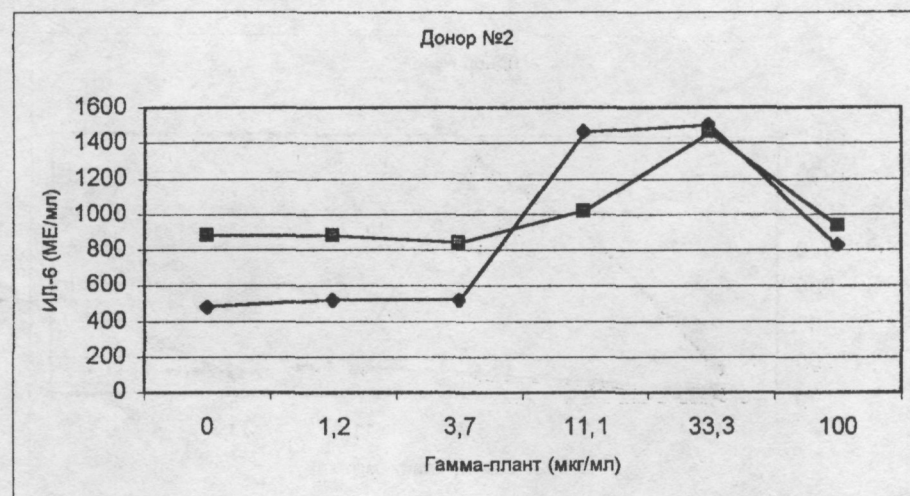
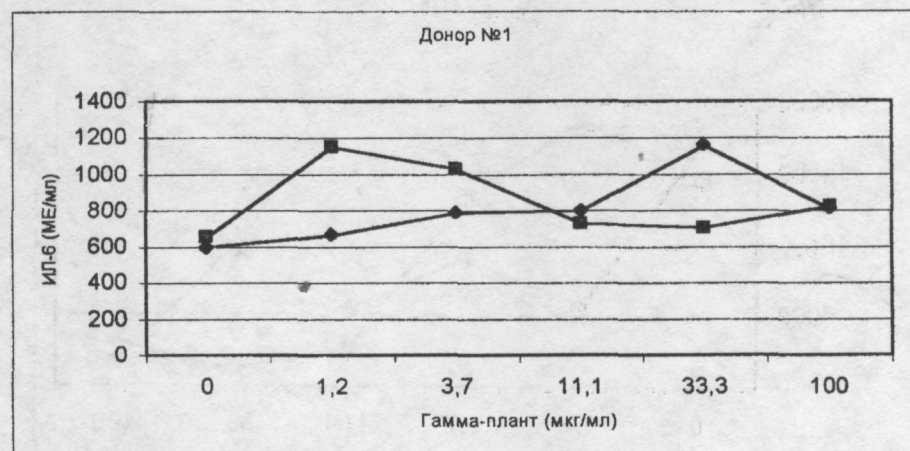


Рисунок 3.

Влияние разных концентраций гамма-планта на продукцию ИЛ-6 в присутствии ЛПС (кривая, на которой точки обозначены квадратами) и в отсутствии ЛПС (кривая, на которой точки обозначены ромбами) из *N.meningitidis* (0,1 мкг/мл). Мононуклеары периферической крови человека были получены от трех различных доноров.

Рассмотренные клеточные медиаторы совместно с другими цитокинами образуют интегральную сеть межклеточных сигналов, реализующих регуляторные эффекты в механизме воспаления. Фармакологическое воздействие на выработку провоспалительных цитокинов – это способ управлять различными воспалительными реакциями. Показано, что хлорпромазин [3] и 1,25 дегидроксивитамин D₃ [18] обладают таким же действием на выработку ФНО, как глюкокортикоиды, в то время как не существует доказательств, что синтез ИЛ-1 меняется под воздействием 1,25 (ОН)₂ D₃ [19]. Выработка ФНО может также регулироваться иммунофаном, синтетическим гексапептидом, который является модифицированным аналогом активного центра тимопоэтина II [20].

Иммуномодулирующие эффекты гамма-планта отличаются от действия описанных выше соединений. Полученные результаты показывают, что инкубация мононуклеаров периферической крови в присутствии различных концентраций гамма-планта приводит к заметной модификации содержания ФНО в культуральной среде. Эта модификация выражается в виде повышения содержания ФНО в супернатантах. Лишь дозы, превышающие 30 мкг/мл, у некоторых доноров вызвали угнетение продукции ФНО. Обнаруженное увеличение содержания ФНО может быть связано как с изменением внутриклеточного синтеза цитокина, так и с его ускоренным освобождением.

Гамма-плант стимулирует также продукцию ИЛ-6 мононуклеарами периферической крови, причем стимуляция ЛПС - индуцированной продукции ИЛ-6 осуществляется более низкими дозами препарата, чем в отсутствие ЛПС. На продукцию ИЛ-1 гамма-плант оказывает регулирующее действие, угнетая его высокую продукцию и стимулируя низкую.

Несмотря на то, что гамма-плант может стимулировать продукцию ФНО, его введение *in vivo* не сопровождается какими-либо нежелательными эффектами, характерными для парентерального введения ФНО, ИЛ-1 или ЛПС. Возможно, происходит мягкая стимуляция системы провоспалительных цитокинов с одновременной активацией механизмов защиты. Например, стимуляция продукции цитокинов может происходить одновременно с повышением продукции циркулирующих антагонистов ИЛ-1 рецепторов или растворимых рецепторов ФНО. Отсутствие реакций на введение гамма-планта *in vivo* может быть также связано со способностью препарата подавлять высокую продукцию ИЛ-1, а его способность увеличивать освобождение ИЛ-6 может, в свою очередь, приводить к стимуляции продукции белков острой фазы, например α₁-кислого гликопротеина. Последний обладает модулирующими действиями на функции лимфоцитов периферической крови [21] и секрецию цитокинов человеческими моноцитами и альвеолярными макрофагами [22]. Полученные результаты являются важными с точки зрения установления механизмов противовоспалительного действия лекарственного средства гамма-плант.

Работа была профинансирована ЗАО НПФ "Гемма-Б".

Авторы выражают благодарность вед. научному сотруднику медико-генетического научного центра РАМН Института генетики человека д.м.н. А.Л. Пухальскому за помощь в проведении научно-исследовательской работы по изучению противовоспалительного действия гамма-планта.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Вядро М.М., Навашин С.М. (1989) Антибиотики и химиотерапия, **34**, 863-869.
2. Fournier, T., Medjdoubi, N., Monnet, D. et al. (1994) Hepatol., **20**, 331-343
3. Gadina, M., Bertini, R., Mengozzi, M. et al. (1991) J.Exp.Med., **173**, 1305-1310
4. Тотолян А.А. (1999) Лаборатория, № 1, 23-31.
5. Henderson B., Poole S., Wilson M. (1996) Microbiol.Rev., **60(2)**, 316-341.
6. Beutler B., Cerami A. (1989) Annu.Rev.Immunol., **7**, 625-655
7. Демина Т.Л., Бойко А.Н., Оганезова В.К. и др., (1991) Иммунология, №4, 40-44
8. Band L, Cadrone J., Tenon H. et al., (1990) Crit. Care Med., **18**, 349-350
9. Jacob C.O., (1992) Immunol.Today, **13**, 122-125
10. Mellors J.W., Griffith B.P., Ortis M.A. et al. (1991) J.Infect.Dis., **163**, 78-82
11. Писарев В.М., Тутельян А.В., Данилина С.Г. и др., (1995) Вопр. мед. химии, **41**, №2, 11-15
12. Чекановская Л.А., Генералов А.В. (2000) Хим.-фарм. ж., **34**, №3, 51-56
13. Чекановская Л.А., (1995) в кн.: Международный симпозиум, посвященный году Пастера, Институт им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, 84
14. Чекановская Л.А. (1997) Вопр. вирусол., **3**, 123-126
15. Методические рекомендации (№49) (1999) Москва, Комитет Здравоохранения
16. Ruff, M.R. and Gilford, G.E. (1981) In Lymphokines, Academic Press, New York, pp. 235-241
17. Waage, A. and Aasen, A.D. (1992) Immunol.Rev. **127**, 221-230
18. Katakami, N., Nakao, Y. and Fujita, T. (1991) Kobe J. Med. Sci., **37**, 179-188
19. Poubelle, P.E., Grassi, J., Pradelles, P. and Marseau, F. (1990) Immunopharmacol., 121-130
20. Tilg, H., Trehu, E., Askins, M.B. (1994) Blood, **83**, 113-118
21. Пухальский, А.Л., Топтыгина, А.П., Калашникова, Е.А. и др. (1994) Бюлл. эксперим. биологии и медицины, **118 (7)**, 71-73

Поступила 15.01.2001.

**GAMMA-PLANT, MODIFIES IN VITRO
RELEASE OF TNF- α , IL-1 β AND IL-6 BY HUMAN PERIPHERAL
BLOOD MONONUCLEAR CELLS.**

L.A.CHEKANOVSKAYA¹, A.V.GENERALOV²

The Institute of Molecular Genetics of Russian Academy of Sciences, Kurchatov sq. 2,
123182, Russia, Moscow,

*Research Institute for Microbiology and Epidemiology of Gabrichevskogo G.N.
Ministry of Public Health, Makarova st. ,10, Russia, Moscow,
Fax(095) 491-15-06

The effect of a new medicine gamma-plant has antiinflammatory activity on human peripheral blood mononuclear cells obtained from healthy donors was studied. Its ability to influence TNF, IL-1 and IL-6 production via mononuclear cells was determined. Lymphokines spontaneous production and lymphokines productions by cells stimulated by LPS was studied. IL-1 content was defined with IL-1sensitive cell line D10G4.1 while IL-6 content with IL-6 dependent heterohybridoma D6C8. TNF activity in supernatants was determined as lysis grade of TNF-sensitive cells of mouse fibrosarcoma L-929. It was shown that gamma-plant acted as stimulator when IL-1 production was low and as inhibitor when it was high. Stimulation of IL-6 production induced with LPS was achieved by low gamma-plant doses while for stimulation of spontaneous production higher doses were required. After nonstimulated LPS peripheral blood cells were treated with gamma-plant statistically sensible stimulated TNF production was observed apart from TNF synthesis level in a control group. The TNF production inhibition could never be demonstrated in subjects that showed in control cultures stimulated with LPS a level of TNF production lower than 100 pg/ml. In four of the five high TNF producers the cytokine release inhibition in LPS stimulated cultures has been observed. It is likely that the mild stimulation of the proinflammatory cytokine system has taken place. For example, simultaneously with stimulation of cytokine production the circulating IL-1 receptor antagonist and/or soluble TNF receptor may be induced.

Key words: gamma-plant, immunomodulator, mononuclear cells, tumor necrosis factor - α , IL-1 β , IL-6.